



TITLE:

自由8 染色体banding法およびin situハイブリダイゼーション法による
霊長類の種分化と系統関係(Ⅲ 共同
利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

田辺, 秀之

CITATION:

田辺, 秀之. 自由8 染色体banding法およびin situハイブリダイゼーション法による霊長類
の種分化と系統関係(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1991, 21: 80-81

ISSUE DATE:

1991-09-30

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164223>

RIGHT:

外し、印象材を乾燥頭蓋から撤去した。再び印象材をフレームに戻し位置関係を再現した状態で超硬石膏を流した。上顎歯列と関節窩の印象採得も下顎に準じた。

本方法の精度を調べるため、任意の1資料について、石膏模型 (Model) と乾燥頭蓋 (Skull) を比較した。計測項目は、①下顎頭内側極間距離、② I_1 間中点と内側極との距離 (左右)、③ I_1 間中点と M_2 頬側分界溝最頂点との距離 (左右)、④ M_2 頬側分界溝最頂点間距離である。接触型三次元座標測定機ザイザックス (東京精密社製) を用いて対象点の三次元座標値を読み取り、

$$\sqrt{(X_1 - X_2)^2 + (Y_1 - Y_2)^2 + (Z_1 - Z_2)^2}$$

によって距離を求めた。

Model と Skull の差は、0.03mm から 0.99mm で平均 0.35mm であった。これらは測定距離の 0.0% から 1.2% に相当した。このことから、本印象採得方法は下顎頭と下顎歯列の三次元的位置関係を再現する上で有効な方法であることがわかった。

今後はこの模型を使って下顎頭、関節窩、歯列の形態的特徴を三次元的に解析していく予定である。

自由 7 :

霊長類の咬合および顎・顔面頭蓋形態変異に関する経年的研究

石川雅章 (東医歯大・歯)

ヒトの咬合の多様性や顎・顔面頭蓋形態に変異が広いことを考察する目的で、胎児ないし乳幼児期に顔の外観がヒトと類似しているとされ、かつその後の咬合が比較的安定している霊長類のうち資料数が多く得られるニホンザルについて、顎・顔面頭蓋の成長発達様式を分析し、ヒト幼児と比較検討することとした。

昭和62年度および平成元年度の共同利用研究では、乳歯列期にあるニホンザル幼獣と成獣の乾燥頭蓋について頭部X線規格写真を撮影し、ヒト幼児の頭部X線規格写真とともに、顎・顔面頭蓋各部の代表的な計測項目間の線の長さや角度について因子分析を行い、ヒトとニホンザル幼獣、成獣の各因子の相連について考察した。これらの結果の一部については、昨年度の年報で報告した。

平成元年度からは、幼獣期における経年的成長発達様式を詳細に検討するために、同年度生れのサル20匹の頭部X線規格写真を撮影し、第一大臼歯萌出期まで経年的に観察する計画を開始した。平成2年度では、これらのサルの1年後の頭部X線規格写真を撮影したが、分析結果およびヒト幼児の発達様式との比較は、平成3年度における頭部X線規格写真を得て検討する予定である。

自由 8 :

染色体 banding 法および in situ ハイブリダイゼーション法による霊長類の種分化と系統関係

田辺秀之 (東京大・理・人類)

霊長類の核型進化の研究は、1970年代に開発された種々の分染法により、バンディングパターンを指標にして融合、解離、転座、逆位などの現象が進化の過程でどのように生じてきたのかを推定する比較研究として行われてきた。しかしこの手法では遺伝子座の正確な位置情報が考慮されず、間接的な情報をもとにしているにすぎない。本研究では霊長類各種に対して直接的な遺伝子マッピングを行ない、種間の対応を通して核型進化を考察することを目的とした。遺伝子マッピングは、ごく最近開発された Non-RI in situ ハイブリダイゼーション法を用いて、染色体上に蛍光シグナルを検出させることにより行なった。試料として原猿から大型類人猿に至るまで合計23種の霊長類の末梢血を用いて染色体標本作製し、今回はその手始めとしてヒト、オランウータン (リンパ芽球様細胞株由来)、ニホンザルの3種にしぼって比較マッピングを行なった。プローブ DNA としてヒト第6染色体短腕上の MHC 領域の HLA-B7 および C4-A 遺伝子をビオチン標識して用いた。実験の結果、両遺伝子ともにオランウータンにおいてはヒトの第6染色体とバンディングパターンが対応する5番目の大きさの次中部着子型染色体の短腕中部にマッピングされ、この領域がヒトと高度に類似した遺伝子地図を有していることが示唆された。これに対し、ニホンザルにおいては5番目の大きさの次中部着子型染色体の長腕中部にマッピングされた。従来、核型が規準化されているアカゲザルとヒトとの比較から、ヒト第6染色体とアカゲザル第2染色体に対応関係があり、MHC 領域もアカゲザル第2染色体の短腕上に存

在するものと考えられていた。ニホンザルとアカゲザルが同じ遺伝子地図を有していると考ええると、従来考えられていた位置とは異なる位置にマッピングされ、進化の過程で何らかの染色体構造の変化が生じたものと考えられる。

自由9:

免疫グロブリンC。遺伝子のヒンジ領域からみた霊長類の進化

渡辺裕二(東京大・理)

免疫グロブリンC。遺伝子のヒンジ領域はヒト上科においては15塩基を基本単位とした繰り返し構造を有し、進化過程でその長さを変化させてきたことが明らかにされている。またC。遺伝子はヒト上科の進化の過程で遺伝子重複と欠失によりゲノム中でのコピー数を変化させてきている。これに対しカニクイザルはゲノム中に1つのC。遺伝子しかもたず、またそのヒンジ領域にはヒト上科にみられた15塩基の繰り返し構造がみられない。そこで旧世界ザル全体でC。遺伝子及びそのヒンジ領域の進化過程を明らかにするために、まずカニクイザル以外の旧世界ザルについてC。遺伝子のゲノム中のコピー数をサザン法により調べた。

調べた旧世界ザルは次の4属7種22個体である：ニホンザル(*Macaca fuscata*) 6個体、アカゲザル(*M. mulatta*) 6個体、タイワンザル(*M. cyclopis*) 3個体、ブタオザル(*M. nemestrina*) 1個体、マントヒヒ(*Papio hamadryas*) 3個体、バタスザル(*Erythrocebus patas*) 1個体、ミドリザル(*Cercopithecus aethiops*) 2個体。これらの高分子DNAを末梢血より抽出し、制限酵素Bgl IIで完全消化し、ヒトC。2遺伝子を含むDNA断片をプローブとしてサザン実験を行なった。その結果、すべての個体で1本のバンドが検出され、バンドの大きさはバタスザルとミドリザルで10.5kbである以外はすべてほぼカニクイザルと同じ16.5kbであった。したがって、カニクイザルを含めて旧世界ザルはゲノム中に1つのC。遺伝子を有し、その数に変異はないことが示された。現在、カニクイザルC。遺伝子のヒンジ領域の周辺領域をプライマーとして、上記旧世界ザルを含む種々の旧世界ザルについてPCR法でヒンジ領域の構造を明らかにしつつある。

自由10:

10血痕の人獣血鑑別に関する研究—高速液体クロマトグラフィーによる簡便・迅速な鑑別法の開発—

高部福太郎・井上博之(名市大・医)

血液及び血痕の種属鑑別は法医学の実践においてきわめて重要な課題の一つであり、主としてヒトヘモグロビン特異抗体を使用した多数の方法が開発され、実践されている。しかしながら免疫血清学的方法では検体が人血由来でなかった場合、その動物の種属を決定するためには、多種類の動物ヘモグロビンに対する抗血清を用意しなければならない。我々は昨年度の研究において高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によりヒト、ヒト以外の霊長類17種及びその他の脊椎動物11種からのグロビン鎖を相互に分離する条件を考案し、血液及び血痕から種属鑑別を行う方法として応用した。使用したHPLC用カラムはSynchropak RP-4(4.6×250mm)であり、0.1%トリフルオロ酢酸存在下、水-アセトニトリルのグラジェント溶出で分析を行った。今年度は同タイプのセミマイクロボアカラム(2.1×250mm)を使用して高感度な検出法を検討した。

流速を0.2ml/minとし、アセトニトリルの溶出勾配を若干改良することで、昨年とほぼ同様なクロマトグラムが得られた。分析に要したHb量は約1μgであり、昨年と比較して約40倍の高感度を得ることが出来た。流速を1/5に下げることによってアセトニトリルの使用量も下がり、ランニングコストを軽減することが出来た。

通常マイクロボアカラムを使用するには、低流速において脈流の無い安定な送液や溶出勾配を得るための特殊なHPLCポンプシステム、試料拡散を極力抑えるためのより細い内径の配管や検出器内のフローセル等を使用しなければならない。しかしながら今回検討したセミマイクロボアカラムの場合、特別な配慮なしに昨年度使用したシステム(Ultrochrom GTi, LKB)に接続するだけで安定な結果を得ることが出来た。

本法は簡便性、迅速性、高感度及び種属特異性の点で優れ、法医学上有用であると考えられる。

自由11:

ニホンザル末梢リンパ球よりSimian Immunodeficiency Virus 分離の試み

村山裕一(予研・筑波霊長類センター)